

MECANISMOS DE ACCION DE LOS ADITIVOS EN ALIMENTACION ANIMAL Y CRITERIOS DE APROBACION COMUNITARIA. EVOLUCION LEGISLATIVA

M. Dolores Baucells y Eugeni Roura.

**U.D. Nutrició Animal. Facultat Veterinària. Universitat Autònoma Barcelona.
08193 Bellaterra, Barcelona.**

Introducción

De todas las repercusiones de la entrada en vigor del Mercado Unico Europeo, una de las más conflictivas e interesantes en el sector de la alimentación animal y aviar es la que hace referencia a los aditivos. La integración de España en la CEE implica el cumplimiento estricto de su legislación sobre aditivos y, en general, sobre los alimentos para animales.

La Directiva básica sobre aditivos es la 70/524/CEE publicada en el Documento Oficial de la Comunidad Europea (DOCE) el 23 de noviembre de 1970, que estableció los criterios básicos a cumplir por los aditivos para la alimentación animal y la primera lista positiva de sustancias autorizadas.

Contenido de la Directiva Comunitaria sobre los Aditivos en Alimentación Animal (70/524/CEE)

La necesidad de una regulación en el uso de los aditivos en alimentación animal surge de dos consideraciones fundamentales. En primer lugar de la importancia de la producción animal en la agricultura de la Comunidad y del hecho de que la alimentación de los animales está cada vez más relacionada con la incorporación de los aditivos. En segundo lugar es indispensable garantizar que no puedan ejercer efectos nocivos sobre los animales ni tampoco sobre el consumidor y el medio ambiente, ya que una parte de ellos está dotada de propiedades farmacodinámicas.

Así, la Directiva fija la lista de sustancias que pueden ser añadidas e indica las especies animales a las que son destinadas, su modo de administración, dosis y duración en base a criterios de inocuidad. En ella se contemplan dos Anexos. Para poder ser utilizado un aditivo precisa estar incluido en uno de ellos. Todo lo que no esté en los Anexos está prohibido y su uso fraudulento puede cerrar mercados comunitarios y entrañar graves sanciones a los vendedores y usuarios.

En el Anexo I se encuentran todos aquellos aditivos aprobados con carácter indefinido. Deben ser aceptados y permitidos por todos los Estados de la CEE, pudiéndose revocar si se descubren hechos nuevos que entrañen peligro en alguno de ellos o en su totalidad.

El Anexo II incluye los aditivos aprobados con carácter provisional y su autorización

se somete al criterio particular de cada Estado miembro, normalmente hasta un plazo determinado. Los aditivos allí englobados deben ser completados en su estudio en 5 años, durante los cuales, si no han logrado acceder al Anexo I, quedan suprimidos. La autorización nacional no exime que el no ser autorizados por un Estado, éste no admita productos de origen animal del resto de los Estados que lo aprueben.

Esta legislación es compleja, porque continuamente va cambiando con disposiciones modificativas de ambos Anexos, con nuevas inclusiones, prórrogas o eliminaciones por lo que la válida es siempre la última lista publicada, que a su vez es parcial. Para evitar confusiones, con cierta frecuencia la CEE vuelve a incluir en su Diario Oficial, las listas completas de los aditivos de los Anexos I y II con objeto de facilitar la referencia y que son utilizadas por los que tienen que manejar estos Anexos para ir anotando las modificaciones siguientes.

Así, listas completas de los Anexos I y II se encuentran en las directivas 85/429 CEE del DOCE del 12 de septiembre de 1985 incluido en el BOE del 23 de marzo de 1988 y la 91/248/CEE del 12 de abril de 1991, incluida en el Boletín Español del 26 de noviembre de 1991. A esta última directiva del DOCE se le han realizado ya una serie de modificaciones hasta la fecha, siendo incluidas algunas de ellas en el BOE del 28 de febrero de 1992:

- 91/336/CEE (DOCE 10-junio-1991)
- 91/508/CEE (DOCE 9-septiembre-1991)
- 91/620/CEE (DOCE 22-noviembre-1991)
- 92/64/CEE (DOCE 13-julio-1992)
- 92/99/CEE (DOCE 17-noviembre-1992)
- 92/113/CEE (DOCE 16-diciembre-1992)

El objetivo fundamental de regular el uso de los aditivos quedó, por tanto, cubierto con la Directiva 70/524/CEE y siguientes, sin embargo los principios indispensables que todo aditivo debe cumplir para su inclusión en los anexos (artículo 6) demostró ser insuficiente ante los requerimientos de un sector cada día más apoyado en el estudio y utilización de nuevos aditivos. La Directiva del Consejo 87/153/CEE publicada en el DOCE del 7 de marzo de 1987, vino a llenar este vacío legislativo sobre la evaluación de los aditivos en alimentación animal.

Contenido de la Directiva Comunitaria para la Evaluación de los Aditivos en Alimentación Animal (87/153/CEE)

La legislación sobre el uso de los aditivos en alimentación animal crea la necesidad de estandarizar la evaluación de los mismos para que estos sean autorizados. Así, el Consejo elabora unas líneas directrices, sobre la base de los conocimientos científicos y técnicos actuales, que constituyen ante todo una guía general para la elaboración de los expedientes de evaluación de los aditivos.

Dichas líneas directrices definen tanto los datos científicos que permitan identificar y caracterizar los productos como, sobre todo, los estudios necesarios para valorar en

particular su eficacia en el efecto principal deseado y su inocuidad para los seres humanos, los animales y el medio ambiente.

Aditivos autorizados en Alimentación Aviar (91/248/CEE y modificaciones)

No es objeto de la presente conferencia proceder a una enumeración necesariamente larga de todos los aditivos autorizados, de sus dosis y condiciones de empleo, pero sí citar la ordenación de los aditivos en las distintas clases establecidas por la Directiva, tanto para el Anexo I como Anexo II. Son las siguientes:

- A.- Antibióticos
- B.- Sustancias antioxidantes
- C.- Sustancias aromáticas y saborizantes
- D.- Coccidiostáticos y otras sustancias medicamentosas
- E.- Emulsionantes, estabilizantes, espesantes i gelificantes.
- F.- Colorantes, incluidos los pigmentos.
- G.- Conservantes.
- H.- Vitaminas, pro-vitaminas y sustancias de efecto análogo químicamente bien definidas.
- I.- Oligoelementos.
- J.- Factores de crecimiento.
- L.- Agentes ligantes, antiaglomerantes y coagulantes.
- M.- Reguladores de la acidez.

Con frecuencia la importancia económica del aditivo ha dado origen a un gran número de publicaciones científicas sobre efectos, metabolismo y mecanismos de acción. En general podemos afirmar que la legislación ha ido evolucionando necesariamente a remolque de tales conocimientos científicos. Siguiendo criterios económicos en avicultura se podrían citar con especial énfasis los coccidiostáticos, aditivos nutricionales, antibióticos, agentes de textura, pigmentantes, antioxidantes y conservantes (Janet, 1988).

Mecanismos de acción y Evolución legislativa de los principales Aditivos autorizados en avicultura (91/248/CEE y modificaciones)

A. Antibióticos

Los antibióticos se han venido utilizando en avicultura como aditivos alimentarios durante más de 40 años. Desde los primeros trabajos experimentales con estreptomycin (Moore y col., 1946) y clortetraciclina (Harned y col., 1948) y el primer enfoque práctico para la avicultura de Stokstad y Jukes (1949), son muchos los trabajos de investigación que se han llevado a cabo sobre estas sustancias permisoras de crecimiento, como queda reflejado en múltiples y extensas revisiones bibliográficas (Jukes, 1955; François, 1962; Visek, 1978; entre otras). A pesar de ello el antibiótico continua siendo uno de los aditivos más polémicos de los usados en el sector avícola.

El mecanismo de acción por el cual la inclusión de dosis bajas de antibióticos en los piensos mejora el crecimiento en los pollos de engorde, sigue siendo un tema de debate entre

los científicos. Se sabe con certeza que las mejoras en producción debidas al uso de antibióticos están relacionadas con el nivel sanitario, siendo éstas más notorias cuando peor es el nivel sanitario del ambiente. Así, por ejemplo, se ha visto que el uso de antibióticos en ambientes muy limpios no resulta en mejoras apreciables de crecimientos e índices de conversión (Coates y col., 1952) y, lo que resulta todavía más revelador, que animales libres de gérmenes no experimentan ningún efecto a la inclusión de antibióticos en la dieta (Coates y col., 1963).

A partir de estas observaciones, miembros de nuestro grupo de investigación en colaboración con el Department of Avian Sciences de la University of California, Davis, trabajaron en la hipótesis según la cual el mecanismo de acción de los antibióticos permiten un mayor crecimiento al reducir las interacciones bacterianas con el animal. Posiblemente, con la disminución del número de contactos entre el huésped y las bacterias, los antibióticos disminuirían el grado de activación del sistema inmunológico y permitirían a los animales un crecimiento mas rápido.

Se diseñaron dos experimentos con pollos jóvenes que pretendían relacionar por una parte la acción de los antibióticos con el nivel sanitario del ambiente y, por otra, la promoción de crecimiento asociada con una disminución de estrés inmunológico. El primer experimento fue un factorial con dos niveles sanitarios que denominamos ambiente sucio y ambiente limpio, y dos niveles (0 y 200 ppm) de una mezcla de estreptomycin-penicilina. El ambiente sucio se consiguió dejando acumular excrementos, plumas y polvo en las baterías previamente al inicio del experimento, mientras que el ambiente limpio se mantenía con la limpieza sistemática de las baterías tres veces por semana. Se observó que los antibióticos permitían un mayor crecimiento y mejor conversión ($P < 0.05$) de los animales criados en el ambiente sucio, pero no en los animales del ambiente limpio (tabla 1). Los animales criados en el ambiente sucio sin antibióticos en la dieta, presentaron un crecimiento más lento y una peor conversión que estuvieron correlacionados en nuestro experimento con un aumento significativo del nivel plasmático de Interleuquina-1 (IL-1: citoquina indicadora de estrés inmunológico según Klasing y col., 1987).

tabla 1. Influencia de la sanidad ambiental y de la inclusión de antibióticos en la dieta sobre parámetros productivos y niveles plasmáticos de IL-1.

Tratamiento	Crecimiento (g/anim/d)	Índice Conversión (crecim/consumo)	Plasma IL-1 (unidades LAF)
Limpio	12.65 ^a	0.66 ^a	0.23 ^a
Sucio	12.10 ^b	0.54 ^a	0.51 ^b
Limpio + Ab	12.72 ^a	0.67 ^a	0.25 ^a
Sucio + Ab	12.57 ^a	0.63 ^a	0.30 ^a
SEM	00.14	0.02	0.06

Diferentes superíndices dentro de una misma columna representan diferencias estadísticamente significativas con una $P < 0.05$.

En el segundo experimento todos los animales fueron criados en un mismo ambiente convencional y se usaron dos niveles de Tetraciclina en la dieta (0 y 100 ppm). El efecto antibiótico de los distintos parámetros estudiados está sintetizado en la **tabla 2**. De acuerdo con lo esperado, los antibióticos derivaron en mejoras estadísticamente significativas de los parámetros productivos (velocidad de crecimiento, consumo y índice de conversión) a la vez que los indicadores de activación inmunológica descendían respecto de los animales alimentados sin antibiótico (Roura y col., 1992).

tabla 2. Influencia de los antibióticos sobre parámetros productivos e índices de estrés inmunológico en un ambiente convencional.

	<u>Con Antibiótico</u>	<u>Sin Antibiótico</u>
Crecimiento (g/a*d)	22.53 ± 0.24 ^a	20.18 ± 0.52 ^b
Consumo (g/a*d)	26.76 ± 0.36 ^a	24.99 ± 0.51 ^b
Conversión (crec/cons)	0.841 ± 0.004 ^a	0.805 ± 0.006 ^b
Hígado (% peso vivo)	2.920 ± 0.04 ^a	3.060 ± 0.04 ^b
Bazo (% pv)	0.092 ± 0.003 ^a	0.105 ± 0.003 ^b
Intestinos (% pv)	6.620 ± 0.10 ^a	7.200 ± 0.15 ^b
Temperatura Rectal (°C)	40.45 ± 0.09 ^a	40.69 ± 0.06 ^b
Metalotioneina (µg/g)	33.90 ± 2.99 ^a	52.76 ± 5.61 ^b

Diferentes superíndices entre las dos columnas indica una significación estadística con una $P < 0.05$.

Se concluyó que la activación subclínica del sistema inmunológico puede frenar el crecimiento de los animales y que los antibióticos podrían permitir un aumento de este crecimiento con la prevención del estrés inmunológico.

De confirmarse esta hipótesis los antibióticos deberían clasificarse como aditivos antibacterianos puesto que este sería verdaderamente su efecto principal y no como factores de crecimiento como reza en numerosas publicaciones. No parece, por tanto, casual que las Directivas comunitarias fijaran desde el principio a los antibióticos como clase de aditivos independiente a la de los "factores de crecimiento".

Es indudable, no obstante, que el verdadero factor limitante de la utilización de los antibióticos en alimentación animal y en última instancia, de los criterios de aprobación legislativa, son las implicaciones en salud pública. El uso generalizado de penicilinas y tetraciclinas (antibióticos de amplio espectro) como aditivos alimentarios, profilácticos y terapéuticos, en animales de granja y también en medicina veterinaria y humana durante los primeros años de la alimentación medicada, dió lugar a la aparición de resistencias bacterianas a antibióticos, transferible a microorganismos patógenos y, por tanto, un peligro tanto para la salud humana como animal. Especialmente desde entonces, el uso de antibióticos en alimentación animal ha estado acompañado de controversia con una sociedad preocupada, por una parte, de los residuos de antibióticos en los alimentos como peligro nutricional para el hombre y, por otra parte, por la transferencia de resistencias a bacterias patógenas.

Las bacterias pueden ser resistentes a algunos antibióticos de forma innata, como característica específica de significación evolutiva, pero también pueden adquirir esta resistencia por transferencia génica (Lacey, 1984). Estos genes se dan en la naturaleza como resultado de la evolución, en frecuencias bajas (Koch, 1981), pero el uso de los antibióticos en medicina humana, medicina veterinaria y producción animal ha dado lugar a un aumento de su incidencia al crear una presión de selectiva artificial. Los microorganismos resistentes, mayoritariamente bacterias Gram-negativas (que pueden ser o no patógenas), pueden ser transmitidas de los animales al hombre mayoritariamente por la cadena alimentaria siendo la carne la vía principal, según afirman Hinton y colaboradores (1986). Son especialmente importantes, tanto por su patogenicidad como por su fácil transmisión al hombre, las cepas resistentes a antibióticos de *Campylobacter jejuni* y de *Salmonella spp.*. Las cepas resistentes de estos microorganismos parecen haberse producido a raíz de la adición de antibióticos en alimentación animal (bovino de carne y aves). En el estudio que se hizo famoso en algunos medios de comunicación con el nombre de "Informe Holmberg", se mostraba a dichos antibióticos como agentes causales de una serie de fatalidades entre gente de la tercera edad y niños (Holmberg y col., 1984) y otras investigaciones los relacionó con la aparición de graves infecciones (Sun, 1984).

tabla 3: Evolución legislativa de la autorización de antibióticos en alimentación aviar. Directivas 70/524/CEE (1970), 85/429/CEE (1985) y 91/248/CEE (1991).

70/524/CEE		85/429/CEE y 91/248/CEE	
ANEXO I	ANEXO II	ANEXO I	ANEXO II
Bacitracina-Zn	Bacitrac-Mn	Bacitrac-Zn	Nosihéptido (1985)
Tetraciclina	Eritromicina	Espiramicina	Avilamicina (1991)
Clortetracic.	Higromicina B	Virginiamicina	
Oxitetracic.	Neomicina	Flavofosfolip.	
Oleandomicina	Soframicina	Avoparcina	
Penicilina-G-K	Tilosina		
Espiramicina			
Virginiamicina			
Flavofosfolipol			

Las autoridades competentes de las Comunidades Europeas no pasaron por alto la importancia y las profundas implicaciones de estos estudios. La evolución legislativa de los antibióticos autorizados en la CEE para su uso en alimentación animal, en general y en alimentación aviar, en particular, muestra con claridad la adaptación a los nuevos conocimientos científicos, destacando en particular la supresión de las tetraciclinas y de la penicilina y prohibiendo en general los antibióticos usados en profilaxis y terapéutica de las enfermedades (tabla 3).

Con las actuales regulaciones la posibilidad de que los antibióticos autorizados en alimentación animal sean foco de problemas sanitarios en el consumidor son virtualmente inexistentes en opinión de algunos especialistas (Lacey, 1984) ya que, por una parte no suelen ser absorbidos por el intestino y por lo tanto no crean residuos en carne y por otra parte, son mayoritariamente activos contra Gram-positivos. Las cepas Gram-positivo no suelen transferir la resistencia a cepas huéspedes de otras especies animales.

B. Sustancias antioxidantes

Prácticamente todas las materias orgánicas, vegetales o animales, son sensibles a la oxidación, aunque algunas muestran una mayor tendencia a oxidarse que otras. Este fenómeno de la oxidación, en un primer momento, consiste en la fijación del oxígeno sobre ciertas moléculas, provocando la aparición de diversos radicales libres. Estos rápidamente se recombinan entre sí y, bajo determinadas condiciones, inician y catalizan nuevas oxidaciones en un proceso autocatalítico que conduce a una reacción en cadena (Schulz, 1985). La utilización de antioxidantes permite bloquear la oxidación en la fase inicial, inhibiendo la propagación de la reacción en cadena, nefasta para la calidad del alimento (Niki, 1987).

En el Anexo I, están inscritas 15 sustancias con efectos antioxidantes. Se trata de diversos derivados del ácido ascórbico y diferentes tocoferoles (extractos de origen natural o productos de síntesis), así como diferentes derivados fenólicos: galatos; BHA; BHT y etoxiquin. Todos ellos están autorizados para todas las especies animales y cualquier alimento.

En estos momentos, la incorporación de antioxidantes en los alimentos para los animales es una realidad y una necesidad en la medida que éstos contienen una gran cantidad de compuestos particularmente susceptibles a la oxidación, como los lípidos, que pueden encontrarse en porcentajes relativamente altos en ciertos alimentos compuestos de alto valor energético para avicultura y cuyo enranciamiento provoca una degradación de las características organolépticas y nutricionales de los alimentos; las vitaminas liposolubles y los pigmentos, cuya actividad se reduce en el caso de la oxidación.

El riesgo de oxidación se incrementa particularmente durante la fabricación del pienso y en el almacenamiento. Los tratamientos térmicos, la luz, la presencia de minerales y oligoelementos, entre otros, son claros factores predisponentes. Es de necesaria referencia la estrecha y bien conocida relación positiva entre el grado de insaturación de la grasa y su susceptibilidad a la oxidación.

No obstante, parte de los antioxidantes autorizados no son sustancias específicas cuyo efecto principal queda restringido únicamente al alimento al que se incorpora, sino que "guardan" sus propiedades antioxidantes para cuando se encuentran dentro del organismo animal que los ingiere, siendo eficaces retardadores de la alteración lipídica de la carne del pollo.

La estabilidad de los lípidos de la canal, no sólo es importante desde un punto de vista organoléptico y de valor nutritivo, sino que se ha demostrado una relación directa entre la presencia de determinados productos de la oxidación lipídica en la dieta y la aparición de enfermedades cardiovasculares en el hombre (Addis, 1986).

Trabajos llevados a cabo por nuestro equipo de trabajo en colaboración con el Department of Avian Science (University of California) mostraron que la suplementación de carotenoides (β -caroteno y cantaxantina, ambos a un nivel de inclusión de 3,6 mg/Kg) y α -tocoferol (100 UI/Kg) en la dieta de broilers, tenía una respuesta positiva sobre la estabilidad de la carne de pollo a diferentes condiciones de conservación (Barroeta y col., 1991).

D. Coccidiostáticos y otras sustancias medicamentosas

La comunidad ha considerado que determinadas sustancias puramente medicamentosas como los anticoccidiósicos, deben ser incluidas como aditivos por el hecho de que la mayor parte de los Estados miembros las utilizan en el marco de una profilaxis colectiva, principalmente en avicultura. Es por todos conocidos que la coccidiosis representa uno de los principales problemas sanitarios de la avicultura intensiva (Voeten, 1989).

De hecho, el empleo de anticoccidiósicos ha continuado creciendo en la CEE y USA en la década de los 80, lo que se debe principalmente a la expansión de la industria avícola como consecuencia del continuo aumento del consumo "per capita" fundamentalmente de carne de pollo, que ahora registra cierta estabilidad. A falta de datos españoles oficiales, el mercado francés estima que el consumo de coccidiostáticos y otras sustancias medicamentosas supera en un 62% a la venta de medicamentos con prescripción veterinaria (Janet, 1988). En EEUU la venta de anticoccidiósicos se ha incrementado en los últimos años, pasando de 15 millones de dólares en 1967 a 83 millones en 1987. El mercado mundial de estas sustancias asciende a unos 300 millones de dólares al año (Reid, 1990).

Hasta 1940 los tratamientos consistían en productos derivados de la leche, antisépticos u otras sustancias sin valor quimioterápico comprobado. En 1937, en la Sociedad Americana de Parasitólogos se declaró que el azufre inorgánico podría prevenir la coccidiosis cecal cuando se incorporaba en gran porcentaje a la dieta. No obstante niveles del 10-20 % únicamente eran tolerados durante cortos períodos de tiempo. Las primeras drogas que demostraron verdadera eficacia fueron las sulfonamidas (Levine, 1939) compuestos que son más efectivos frente a las especies intestinales que cecales. Las primeras en comercializarse fueron la nitrofenida y la sulfoquinoxalina.

Posteriormente, toda una serie de compuestos fueron paulatinamente sintetizados, comprobados y comercializados. Así, y a título de ejemplos, en 1955 apareció el nicarbacín; en 1960 el amprolium; en 1971 la monensina, el primer anticoccidiósico ionóforo reconocido; la salinomina y el lasolacid se introdujeron en 1973 y 1974, respectivamente y la maduramicina, efectiva a dosis excepcionalmente bajas (5-6 ppm) fue descubierta en 1984 (Reid, 1990). La tendencia general ha sido, dada la competencia entre firmas y el hecho

de que sistemáticamente se incluyan en el alimento sin esperar al diagnóstico de la enfermedad, a reducir el precio, aumentar el espectro de acción y disminuir las dosis de inclusión.

En la legislación vigente se contemplan 19 anticoccidiósicos en el Anexo I y 7 en el Anexo II (con autorización la mayoría de ellos hasta el 30-11-93), habiéndose asistido a numerosas modificaciones a lo largo de las distintas Directivas, lo que a menudo ha provocado cierta confusión. A pesar de la gran cantidad de sustancias las más utilizadas pueden agruparse en tres categorías:

1 - Antibióticos ionóforos: monensina; salinomina; narasina; lasolacid; maduramicina

2- Productos químicos: amprolio; nicarbacina; robenidina; halofuginona; clopidol; decoquinato; dinitolmida; dimetridazol

3- Productos combinados: metilclorpidol+metilbenzocato; nicarbacina+narasina; amprolio+etopabato

Aunque en la legislación se habla de coccidiostáticos indistintamente, tradicionalmente se consideran coccidiostáticos aquellas sustancias que limitan el desarrollo del coccidio, interfiriendo en su propio metabolismo y previniendo su multiplicación, pero sin matar al parásito. Mientras que los coccidicidas se presentan como letales en su mecanismo de acción. Muchas sustancias tienen ambas propiedades dependiendo de las condiciones de uso, habiéndose demostrado que productos inicialmente coccidicidas tienen un efecto estático después de su larga utilización. En términos generales podríamos decir que la nicarbacina, la robenidina y los ionóforos son más coccidicidas y el clopidol y las quinolinas más coccidiostáticos (Reid y col., 1968; McDougald, 1986).

Algunos anticoccidiósicos actúan sobre las primeras fases de desarrollo (ionóforos, quinolinas y clopidol) por lo que generalmente se hallan incluidos en los programas de control profiláctico, otros tienen una acción más tardía sobre el ciclo de la *Eimeria spp.* y, debido a ello, se utilizan principalmente para el tratamiento de los brotes coccidiósicos (amprolio, nicarbacina y arprinocida).

La sustancia anticoccidiósica perfecta no ha sido descubierta todavía. Todos los productos disponibles tienen sus consideraciones que limitan a menudo su utilización. Si bien la toxicidad e incluso la falta de palatabilidad son aspectos importantes a considerar, es quizás el desarrollo de resistencias el principal problema de estos productos. Cuando una sustancia es utilizada continuamente en una explotación por un tiempo determinado, hay bastantes posibilidades de que la *Eimeria spp.* se vuelva total o parcialmente resistente a él. La resistencia a un anticoccidiósico puede definirse como la capacidad de una cepa de coccidio a desarrollarse completamente hasta llegar al estado ooquistico, pese a la presencia del fármaco inhibidor (Asdrubali y Coletti, 1982). Es importante señalar que cuando esta quimiorresistencia aparece no ocurre con todas las *Eimeria spp.*

Pueden distinguirse dos tipos de resistencias en los coccidios. Una se manifiesta

rápidamente ("one step fashion") y otra *lentamente* ("step by step manner"), necesitando un prolongado contacto entre el fármaco y el parásito. Mientras que el clopidol, la robenidina, los nitrofuranos y los sulfamídicos entre otros son ejemplos de rápida capacidad de crear resistencia (McDougald y Reid, 1983), los ionóforos y la nicarbacina son productos cuyo patrón de resistencia se desarrolla mucho más lentamente (Mathis y col., 1984; Reid, 1989). También merece ser mencionada la propiedad de la resistencia cruzada, con resistencias múltiples especialmente dentro de los productos de una misma familia.

Ante esta situación se han propuesto varios métodos para optimizar la utilización de estos productos, entre los más extendidos están el sistema de suministrar cantidades decrecientes de coccidiostáticos (utilizado fundamentalmente en pollitas de recría); agotar la vida de un producto (puede ser peligroso en la práctica); el sistema de administración alternante ("shuttle programme") basado en la utilización de dos productos en diferentes estadios: un producto químico y otro ionóforo y, por último, el sistema rotacional en el que intervienen dos o tres anticoccidiósicos, siendo conveniente que algunos de ellos se utilicen preferentemente en una determinadas épocas del año, por ejemplo, monensina en verano (McDougald y Reid, 1983; Voeten, 1989).

Otro problema importante en la utilización de este tipo de fármacos es el relativo a los residuos en los productos de consumo humano. La legislación, en su caso, prohíbe la administración desde la edad de la puesta y prescribe el período de supresión anterior al sacrificio. Por último, cabe destacar la interferencia de determinados ionóforos con otros medicamentos (tiamulina) como remarca la legislación de la CEE.

El contexto general del control de la coccidiosis se está viendo recientemente alterado por las expectativas prometedoras del desarrollo de una vacuna. Aunque una posible aplicación práctica parece todavía lejana, en opinión de diversos autores especialistas van a suponer una clara alternativa (McDougald y col., 1986; Yvone, 1989; Reid, 1990).

F. Colorantes, incluidos los pigmentos

En la legislación se incluyen en el mismo grupo a los pigmentantes y a los colorantes. Estos últimos se incorporan al alimento con objeto de provocar en él una coloración determinada. Mientras que los pigmentantes se destinan a dar una coloración no al alimento al que suplementan, sino al producto final adecuándolo a las exigencias organolépticas de cada mercado.

Si bien en la última lista completa de aditivos autorizados (91/248/CEE) se contemplaban 9 pigmentantes, con la Directiva (91/508/CEE) del 9 de septiembre de 1991 quedó prohibida la utilización de la violaxantina porque "determinados estudios han puesto en duda la eficacia del carotenoide". Los 8 pigmentantes autorizados actualmente en avicultura se encuentran incluidos en el Anexo I desde 1970, a excepción de la citranaxantina cuya incorporación fue posterior. Son los siguientes: capsanteína, β -apo-8'-carotenal, esterélico del ácido β -apo-8'-carotenoico, luteína, criptoxantina, cantaxantina, zeaxantina y citranaxantina. En la actualidad no se encuentra ningún pigmento en el Anexo II.

Cada pigmento puede ser utilizado aislado o conjuntamente con otros pigmentos, sin que la cantidad supere los 80 ppm del alimento completo. No obstante, en la práctica, la tasa de inclusión es inferior y oscila dependiendo, en parte, de su eficacia.

Si bien la denominación exacta de la lista de aditivos es carotenoides y xantofilas, habría que realizar una matización. Carotenoides es el término genérico del grupo de pigmentos naturales más importantes que se conocen. Universalmente presente en los tejidos fotosintéticos de las plantas y probablemente implicados en la fotoprotección (Scolnik, 1987). El color deriva de la presencia en su estructura molecular de cromóforos o grupo de dobles enlaces C-C conjugados. Los carotenoides se clasifican en dos grupos:

1- hidrocarburos o carotenos, que contienen únicamente hidrógeno y carbono en su molécula, y que no son pigmentantes efectivos en aves ya que éstas los convierten eficazmente en vitamina A (Goodwin, 1986).

2- hidroxipigmentos o xantofilas u oxicarotenoides, que contienen además oxígeno en su estructura molecular. Una vez ingeridos, las aves los almacenan preferentemente en hígado, huevo, grasa corporal, piel, plumas, pico y tarsos, pigmentándolos (Lipstein, 1984; Puchal, 1988).

A consecuencia de la oxidación debido a la adición de un grupo hidroxilo o cetónico, las xantofilas pierden total o parcialmente su actividad pro-vitámica A (Schiedt y col., 1985). Las xantofilas a su vez se subdividen dependiendo del número de radicales -OH en: monohidroxipigmentos (criptoxantina, citranaxantina); dihidroxipigmentos (luteína, zeaxantina); polihidroxipigmentos (violaxantina). Los grupos hidroxilo pueden estar libres o esterificados con ácidos grasos. Adicionalmente los carotenoides pueden tener grupos cetónicos (cantaxantina) que acentúan la coloración roja de estos pigmentos.

El color percibido depende de la cantidad y calidad de los productos que se incluyen en la dieta (Puchal, 1988). Es necesaria una buena base de pigmentos amarillos pero siempre se necesitan los pigmentos que dan coloración rojiza.

Si bien todos los pigmentos autorizados se pueden utilizar indistintamente tanto en broilers como en gallinas ponedoras, es importante resaltar que determinados pigmentos como la zeaxantina y el β -apo-8'-carotenal no se muestran tan eficaces en la pigmentación de la yema del huevo como en la del los tejidos del broiler (Scholtyssek, 1978). En cambio, la citranaxantina tiene una mayor afinidad por la yema del huevo (Karunajeewa, 1980; Belyavin y Marangos, 1987). Estas características han sido recogidas, en parte, en la legislación (91/248/CEE).

G. Conservantes

Los conservantes son los aditivos destinados a mantener la buena calidad higiénica de los alimentos, en particular evitar el desarrollo de contaminaciones bacterianas y especialmente fúngicas, de ahí que también se conozcan como antifúngicos. Para los alimentos

secos, con menos del 14% de humedad como los usados en avicultura, el crecimiento fúngico es muy lento y por tanto la adición de conservantes es principalmente preventiva.

Si bien la primera Directiva comunitaria sobre aditivos (70/524/CEE) no contempla dicha categoría, sino que clasifica en el Anexo II al ácido propiónico y sus sales dentro de la clase "Otros aditivos", en la siguiente Directiva (85/429/CEE) reflejó el hecho de que su toxicidad no inspiraba inquietud siendo autorizados un gran número de sustancias, corroboradas con alguna nueva inclusión en la Directiva 91/248/CEE, en lo que a avicultura respecta.

Así, los conservantes autorizados en avicultura son los ácidos orgánicos siguientes: sórbico, fórmico, acético, láctico, propiónico, fórmico, D,L-málico, fumárico, cítrico, L-tartárico y ortofosfórico, así como algunas de sus sales de Na, K, Ca y NH₄.

Los ácidos orgánicos de cadena corta empezaron a ser utilizados como acidificantes en dietas de cerdos para intentar minimizar la diarrea post-destete de los lechones. Desde los años 70, sin embargo, se han utilizado ampliamente en avicultura como conservantes para el control de hongos y otros microorganismos (Stewart y col., 1977; Paster y col., 1990). Este cambio en el efecto principal explica la reclasificación referida anteriormente en las directivas de la CEE.

El mecanismo de acción se consigue por difusión dentro de la célula atacada. El consiguiente descenso del pH citoplasmático por una parte, inhibe la síntesis de diversas macromoléculas entre las que se encuentran componentes de la pared celular (Cherrington y col., 1990) y por otra, desnaturaliza las proteínas ácido-lábiles (Hinton, 1990).

El problema de la contaminación con *Salmonella* se ha intentado combatir con algunos de estos ácidos, como el fórmico o el propiónico (Mansfield y Emmans, 1984; Rourse y col., 1988; Humphrey, 1991), especialmente desde que se hizo evidente que las dietas podían ser la principal fuente de contaminación en aves (Stuart, 1984).

Las mejoras en los parámetros productivos, señaladas por algunos investigadores, no parecen explicarse directamente por el poder antifúngico, especialmente en piensos secos, lo que dio pie a que se intentaran hallar nuevos nexos de relación. Estos parecen encontrarse en la flora microbiana intestinal ya que son varios los grupos de investigación que coinciden en resaltar una alteración de esta flora a raíz de la adición de ácidos orgánicos de cadena corta en la dieta (Vogt y col., 1981; Patten y Waldroup, 1988; Izat y col., 1990; entre otros).

En experiencias realizadas por nuestro grupo de investigación se observaron mejoras de crecimiento de pollos de engorde alimentados con adición de ácidos orgánicos (mezcla de sales amónicas de fórmico y propiónico) durante los primeros 21 días de vida ($P < 0.05$). Estas mejoras fueron asociadas a un descenso aparente del pH del pienso y de la carga microbiana aerobia de la dieta (tabla 4). También se encontraron algunos signos de disminución de la actividad del sistema inmunológico con la adición de los ácidos así como algunas alteraciones significativas en metabolitos plasmáticos que no han podido ser explicadas hasta el momento (Roura, 1992).

tabla 4. Efecto de la adición de ácidos orgánicos a la dieta sobre crecimiento, calidad sanitaria del pienso y indicadores de actividad del sistema inmunológico.

PARAMETROS	CONTROL	CONTROL + AC.ORGANICOS
pH pienso	6.30	6.19
bacterias aerobias totales (CFU/g)	4x10 ⁵	3x10 ³
ganancia media diaria (g/p.d)	24.32*	26.00
temperatura rectal (°C)	41.03	41.12
Niveles plasmáticos de:		
Cu (µg/l)	154.6	147.5
Zn (µg/ml)	1.55*	1.45
ácido úrico (mg/dl)	9.10*	10.51
proteínas totales (g/dl)	3.67	3.73
antic. Newcastle (títulos)	1/69	1/89

* Medias en la misma línea con asterisco indican diferencias significativas (P<0.05) debidas a la a la dieta.

De acuerdo con estos resultados y con la bibliografía antes mencionada, los ácidos orgánicos de cadena corta no debieran ser considerados únicamente por su efecto antifúngico en el pienso. No sólo parece claro que su acción antibacteriana tanto en el pienso como en la flora intestinal es importante sino que, además, tanto resultados propios (sin publicar) como de otros grupos de investigación (Phelps y col., 1992) parecen indicar una actividad metabólica de estos ácidos orgánicos de cadena corta modificando las rutas más directamente relacionadas con la gluconeogénesis.

Propuesta de Directiva del Consejo sobre la admisión de aditivos y posibles modificaciones de adaptación al Mercado Unico.

Dados los últimos avances técnicos en aditivos, la Comisión de las Comunidades Europeas ha elaborado una Propuesta de Directiva del Consejo que modifica a la Directiva 70/524/CEE para admitir, provisionalmente y bajo determinadas condiciones, la utilización y comercialización de enzimas, microorganismos y sus preparados en la alimentación animal, con objeto de mejorar la digestibilidad de los nutrientes, estabilizar la flora del aparato digestivo o reducir la cantidad de algunas sustancias peligrosas para el medio ambiente.

Por otra parte y, siempre dentro del objetivo de adaptar la legislación al Mercado Unico Europeo, se está discutiendo un proyecto de profunda modificación de la Directiva básica que podría contemplar temas tan importantes como la desaparición del Anexo II o tratar el

problema de la protección de patentes. Este proyecto, sin embargo, parece lejos de su finalización según fuentes vinculadas a la Comisión de las Comunidades Europeas.

En el momento de redactar esta memoria no se cuenta con más datos sobre estas nuevas propuestas, pero la evidencia de una actividad superior a la normal, nos advierte que va a ser importante para el sector avícola seguir atentamente el desarrollo legislativo de los próximos meses.

BIBLIOGRAFIA

- ADDIS, P.B. (1986), "Occurrence of lipid oxidation products in foods". *Fd Chem. Toxic*, 24: 1021-1030.
- ASDRUBALI, G. y COLETTI, M. (1982), "Prevención de las coccidiosis aviares". *Rivista di Avicoltura*, 51: 31-38.
- BELYAVIN, C.G. y MARANGOS, A.G. (1987), "Natural products for egg yolk pigmentation" en W. Haresing y D.J.A. Cole, *Recent Advances in Animal Nutrition*, London, Butterworths, pp.47-68.
- BARROETA, A.C., FITZPATRICK, D. y KING, A.J. (1991), "Efecto de la suplementación de la dieta con antioxidantes naturales sobre la oxidación lipídica de la canal del pollo". *Proc. XXVIII Symp. de Avicultura Científica*, pp.249-255.
- COATES, M.E., FULLER, R., HARRISON, G.F., LEV, M. y FOLK, S.F. (1963), A comparison of the growth of chicks in the Gustafsson germ-free apparatus and in conventional environment, with and without dietary supplements of penicillin. *Br. J. Nutr.* 17: 141-150.
- COATES, M.E., DICKINSON, C.D., HARRISON, G.F., KON, S.K., PORTER, J.W.G., CUMMINS, S.H. y CUTHBERTSON, W.F.J. (1952), A mode of action of antibiotics in chick nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 1: 43-48.
- CHERRINGTON, C.A., HINTON, M. y CHOPRA, I. (1990), "Effect of short-chain organic acids on macromolecular synthesis in *Escherichia coli*". *J. Appl. Bacteriol.* 68: 69-74.
- FRANÇOIS, A.C. (1962), "Mode of action of antibiotics on growth". *World. Rev. Nutr. Diet.* 3: 21-63.
- GOODWIN, T.W. (1986), "Metabolism, nutrition and function of carotenoids". *Ann. Rev. Nutr.* 6:273-297.
- HARNED, B.K., CUNNINGHAM, R.W., CLARK, M.C., COSGROVE, R., HINE, C.H., McCAULEY, W.C., STOKEY, E., VESSEY, R.E., YUDA, N.N. y SUBBAROW, Y. (1948), "The pharmacology of duomycin". *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 51: 182.
- HINTON, M. (1990), Antibacterial activity of short-chain organic acids "The veterinary record", April 14, 1990, S-38, p. 379.
- HINTON, M.H., KAUKAS, A. y LINTON, A.H. (1986), "The ecology of drug resistance in enteric bacteria". *J. Appl. Bacteriol., Symposium Supplement* 77S-92S.
- HOLMBERG, S.D., OSTERHOLM, M.T., SENGER, K.A. y COHEN, M.L. (1984), "Drug-resistant *Salmonella* from animals fed antimicrobials". *N. Engl. J. Med.* 311: 617.
- HUMPHREY, T.J. (1991), "The influence of feed treatment with organic acids on the colonization of broiler

chickens with *Salmonella enteritidis* PT4 and other *Salmonellas*" en R. W. MULDER y A. W. VRIES, Quality of Poultry Products III. Safety and marketing aspects, Doorwerth, The Netherlands, pp.49-57.

IZAT, A. L., ADAMS, M. H., CABEL, M. C., COLBERG, M., REIBER, M. A., SKINNER, J. T., y WALDROUP, P. W. (1990), "Effects of formic acid or calcium formate in feed on performance and microbiological characteristics of broilers". Poultry Sci. 69: 1876-1882.

JANET, Ch. (1988) Additifs et suppléments en alimentation animale de 1975 à 1985 en France. INRA-IREP, 2^e edición, Grenoble.

JUKES, T. H. (1955), "Antibiotics in nutrition", en Medical Encyclopedia, Inc., New York.

KARUNAJEEWA, H. (1980), "The deposition of synthetic oxycarotenoids in egg yolk". World's Poultry Sci. J. 36: 219-226.

KLASING, K. C., LAURIN, C. E., PENG, R. K. y FRY, D. M. (1987) Immunologically mediated growth depression in chicks: influence of feed intake, corticosterone and interleukin-1. J. Nutr. 117: 1629-1637.

KOCH, A. L. (1981), "Evolution of antibiotic resistance gene function". Microbiological Reviews 45: 355-378.

LACEY, R. W. (1984), "Are resistant gram-positive bacteria in animals a threat to man?" en WOODLINE, M., Antimicrobials and agriculture. Studies in the agricultural and food sciences, London, Butterworths, pp.221-235.

LEVINE, P. P. (1939), "The effect of sulfanilamide on the course of experimental avian coccidiosis". Cornell Vet. 29: 309-320.

LIPSTEIN, B. (1984), "Meat quality in broilers, with particular reference to pigmentation" en W. HARESIGN y D. J. A. COLE, Recent Advances in Animal Nutrition, London, Butterworths, pp. 17-41.

MATHIS, G. F., McDOUGALD, L. R. y McMURRAY, B. (1983), "Effectiveness of therapeutic anticoccidial drugs against recently isolated coccidia". Poultry Sci. 63: 1149-1153.

MANSFIELD, J. M. y EMMANS, H. (1984), "Surveillance of *Salmonella* in a commercial poultry production and processing operation". J. Sci. Food Agric. 35: 637-638.

McDOUGALD, L. R. y REID, M. (1983), "Nuevos coccidiostatos: o en el futuro se consiguen mejores productos o alternativas o nuestras especies están amenazadas". Feedstuffs, 55: 23-34.

McDOUGALD, I. R. (1986), "Coccidian and related infections" en W. C. Campbell y R. S. Rew, Chemotherapy of parasitic diseases, New York-London, Plenum Press, pp.159-170.

MOORE, P. R., EVENSON, A., LUCKEY, T. D., McCOY, E., ELVEHIM, C. A. y HART, B. E. (1946), "Use of sulfasuxidine, streptothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick". J. Biol. Chem. 16: 437.

NIKI, E. (1987), "Antioxidants in relation to lipid peroxidation". Chemistry and Physics of lipids, 44: 227-253.

PASTER, N., PINTHUS, E. y RECCHMAN, D. (1987), "A comparative study of the efficacy of calcium propionate, agrosil, and adofeed as mold inhibitors in poultry feed". Poultry Sci. 66: 858-860.

PATTEN, J. D. y WALDROUP, P. W. (1988), "The use of organic acids in broiler diets". Poultry Sci. 67: 1178-1182.

PHELPS, V. E., MORAN, E. T. y SPANO, J. S. (1992), "Propionic acid as a dietary gluconeogenic source to relieve poult 'starveouts'". Poultry Sci. 71 (sup. 1): 27.

- PUCHAL, F. (1988), "Pigmentanti naturali in avicoltura". Università di Bologna, Istituto di Zootechnia e Nutrizione Animale, Sintofarm.
- REID, W. M., WOMACK, H.E. y JOHNSON, J. (1968), "Coccidiosis susceptibility in layer flock replacement programs". *Poultry Sci.* 47: 892-899.
- REID, W. M. (1990), "History of avian medicine in the United States. X. Control of coccidiosis". *Avian Diseases*, 34: 509-525.
- ROURA, E., HOMEDES, J. y KLASING, K.C. (1992), "Prevention of immunologic stress contributes to the growth permitting ability of dietary antibiotics in chicks". *J. Nutr.* 122: 2383-2390.
- ROURA, E. (1992), "Exposició immunogènica d'origen ambiental, dietètica, i vacunal. Additius alimentaris com immunomoduladors en pollastres de carn". Tesis doctoral, Fac. Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona.
- ROUSE, J., ROLOW, A. y NELSON, C.E. (1988), "Research note: Effect of chemical treatment of poultry feed on survival of *Salmonella*". *Poultry Sci.* 67: 1225-1228.
- SCHIEDT, K., LEUIENBERGER, F.J., VECCHI, M. y GLINZ, E. (1985), "Absorption, retention and metabolic transformations of carotenoids in rainbow trout, salmon and chicken". *Pure & Appl. Chem.* 57:655-692.
- SCHOLTYSSEK, S. (1978), "Quality and pigmentation of the broiler skin". *World's Poultry Sci. J.* 34: 222-229.
- SCHULZ, H. (1985), "Oxidation of fatty acids", en D.E.VANCE and J.E.VANCE, *Biochemistry of lipids and membranes*, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Menlo Park, California, pp.116-141.
- SCOLNIK, P.A. (1987), "Biosynthesis and function of carotenoids in plants", en A.R.LISS, *Plant Gene Systems and their biology*, pp.383-395.
- STEWART, R.G., WYATT, R.D. y KIKER, J. (1977), "Effect of commercial antifungal compounds on the performance of broiler chickens". *Poultry Sci.* 56: 1664-1666.
- STOKSTAD, E.L.R. y JUKES, T.H. (1949), Artículo presentado en Informal Poultry Nutrition Conf., Federation Meetings, Chicago.
- STUART, J.C. (1984), "Agriculture group symposium: prospects for the control of *Salmonella* for the poultry industry". *J. Sci. Food. Agric.* 35: 632-639.
- SUN, M. (1984), "New study adds to antibiotic debate". *Science* 26: 818.
- VISEK, W.J. (1978), "The mode of growth promotion by antibiotics". *J. Animal Sci.* 46: 1447-1468.
- VOETEN, A.C., "Recent developments in the field of anticoccidial agents for poultry", en D.J.A. Cole y W. Haresign, *Recent Development in Poultry Nutrition*, London, Butterworths, pp.292-302.
- VOGT, H., MATTHES, S. y HARNISCH, S. (1981), "The effect of organic acids in the rations on the performances of broilers and laying hens". *Arch. Geilugelkd.* 45: 221-232.
- YBORE, P. (1973), *Symposium international sur les coccidioses*, Tours, Laboratoire de Parasitologie Station de l'Institut de la Recherche Agronomique, France, pp.201-211.